

Versuche
über die
Fettbildung bei der Reifung des Käses.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doctorwürde
bei der
hohen medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn
vorgelegt
im Juli 1894
von
Heinrich Jacobsthal
aus Charlottenburg.

Bonn,
Universitäts-Buchdruckerei von Carl Georgi.
1894.

Meinen lieben Eltern.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

(Aus dem physiologischen Institut in Bonn.)

Versuche über die Fettbildung bei der Reifung des Käses.

Von

H. Jacobsthal,
stud. med.

Die Frage nach der Entstehung des Fettes aus Eiweiss nimmt schon seit längerer Zeit das Interesse der Physiologen in Anspruch. Neuerdings sind die zur Erhärtung dieser Ansicht vorgebrachten Gründe durch Pflüger's Untersuchungen, die einen Umschwung in der Lehre vom Stoffwechsel bedeuten, einer genauen Kritik unterworfen und als nicht eindeutig erwiesen worden. Zu den Gründen, die man für die Möglichkeit der Entstehung von Fett aus Eiweiss anführte, gehört auch die Zunahme der Fette beim Reifen des Roquefort-Käses, eine Angabe, die zuerst von Blondeau¹⁾ gemacht und von da in viele Lehrbücher der Physiologie übergegangen ist. Obwohl die Frage für und wider vielfach discutirt worden ist, konnte doch keine Einigung erzielt werden, da die Angaben sich schroff gegenüberstanden. Es erschien deshalb eine erneute Untersuchung über den Gegenstand wünschenswerth, zu der mich Herr Geheimrath Pflüger aufforderte.

Was die bisherigen Arbeiten anbetrifft, so sind die Resultate derselben folgende:

Blondeau, der die procentische Zusammensetzung des Roquefort-Käses in verschiedenen Stadien untersuchte, fand einen Fettgehalt von

1,85% in frischem Käse,
16,12% in 1 Monat altem Käse,
32,31% in 2 Monat altem Käse.

Es muss hierbei betont werden, dass diese Vermehrung der Fette eine relative ist. Er zog aus diesen Zahlen den Schluss, dass eine Neubildung von Fett aus dem Eiweiss des Käses stattgefunden habe.

1) Ch. Blondeau, Étude chimique du fromage de Roquefort. Ann. chim. et phys. 1864. T. I. p. 208.

Gegen diese Auffassung sprach sich Brassier¹⁾ in einer schon im Jahre darauf erschienenen Arbeit aus, der in seinen mit gewöhnlichem Milchkäse angestellten Versuchen zu dem entgegengesetzten Resultat kam, eine absolute Abnahme der Fette erhielt, wie aus folgendem ersichtlich ist:

300 gr Käse enthalten:

frisch	66,78 gr Fett,
nach 2 Monaten	56,31 gr „
nach 4 Monaten	46,92 gr „
nach 7 Monaten	39,74 gr „

Die nächste Angabe über diese Frage findet sich in den Arbeiten Duclaux's²⁾, der durch seine Untersuchungen über den Cantal-Käse zu der Ueberzeugung kommt, dass keine wesentliche Veränderung des Fettgehaltes bei der Käsereifung stattfindet. Für uns kommen die Zahlen in Betracht:

	Masse initiale	Masse fermentée	
		Intérieur	Surface
Matière grasse	46,7	44,6	71,0
Caséine	50,7	42,8	6,7

Die Zahlen sind auf Procente der Trockensubstanz bezogen; die Vermehrung der Fette auf der Oberfläche hält Duclaux nur für eine scheinbare, durch die Verbrennung des Eiweisses bedingte, bei absolut unveränderter Fettmenge. Die so verschiedenen Resultate suchte Kemmerich³⁾ unter einem Gesichtspunkt zu vereinigen, der zunächst in einer 1867 erschienenen vorläufigen Mittheilung angibt, dass er in längeren, mit gewöhnlichem Kuhkäse ausgeführten Versuchen, welche die Angaben Blondeau's im Wesentlichen bestätigten, die absolute Zunahme des Fettes in faulendem Käse festgestellt habe. Diese Mittheilung bezieht sich ohne Zweifel auf die 2 Jahre darauf veröffentlichten Untersuchungen⁴⁾.

1) Brassier, Sur les modifications que le fromage subit en vieillissant. Ann. chim. et phys. 1865 T. V. p. 270.

2) E. Duclaux, Maturation et maladies du fromage du Cantal. Compt. rend. T. LXXXV. p. 1171—73. 1877.

Ders., Fabrication, Maturation et maladies du fromage du Cantal. Ann. agron. T. V. p. 5—18. 1879.

3) E. Kemmerich, Beiträge zur Kenntniss der physiologischen Chemie der Milch. Centralbl. f. d. med. Wiss. 1867. Nr. 27.

4) E. Kemmerich, Beiträge zur physiologischen Chemie der Milch. Pflüger's Archiv. Bd. II. p. 401—14. 1869.

Die grösste Vermehrung der Fette ist durch die Zahlen gegeben:

25 gr Käse in 1 Stück.

Tage der Aufbewahrung	absolute Fett- menge in gr
0	1,130
6	1,500
16	2,000

Auf seine Erklärung der hiervon abweichenden Befunde anderer Forscher werde ich später zurückkommen.

Entschieden gegen eine Fettbildung sprach sich N a d i n a Sieber¹⁾ aus, wie es scheint, ohne die zuletzt angeführte Arbeit Kemmerich's zu kennen. Sie untersuchte die procentische Zusammensetzung des Roquefort-Käses verschiedenen Alters und fand, wie Blondeau, eine (relative) Vermehrung der Fette, wie nachstehende Tabelle zeigt:

Fettgehalt im frischen Käse	nach 1 monat- lichem Liegen	Alter Käse
27,36 %	31,23 %	40,13 %
27,47 %		

Sie erklärt die Zunahme für eine scheinbare, durch Wasserverlust bedingte; auf Trockensubstanz bezogen, ergeben sich die Zahlen:

frischer Käse	53,91 % Fett
nach 1 monatlichem Liegen	49,94 % „
alter Käse	56,14 % „

Der höhere Fettgehalt des alten Käses soll entweder durch ursprüngliche Verschiedenheit oder durch die Verbrennung des Eiweiss, wodurch der Procentgehalt des letzteren sich vermindert, bedingt sein.

Soweit ich es übersehe²⁾, ist dies die letzte Arbeit, die über

1) Nadina Sieber, Ueber die angebliche Umwandlung des Eiweisses in Fett beim Reifen des Roquefort-Käse. Journ. f. prakt. Chem. 1880. N. F. XXI.

2) Leider ist die Arbeit Maggiora's, Ueber die Zusammensetzung des überreifen Käses (Arch. f. Hygiene XIV, p. 216. 1892) erst während des Druckes zu unserer Kenntniss gelangt. Verf. findet unter den Veränderungen, die der überreife Käse erleidet, eine durch Verseifung der Neutralfette be-

den Gegenstand erschienen ist. Gleichwohl war die Frage nicht endgültig entschieden und die Physiologen neigten sich theils der von Blondeau, theils der von Brassier zuerst vertretenen Auffassung zu.

Bei der Ausführung meiner Versuche liess ich mich besonders von zwei Gesichtspunkten leiten: es musste erstens von einem ganz frischen, noch ungereiften, fettarmen Käse ausgegangen werden; denn ich war der Ansicht, dass, wenn überhaupt eine Fettbildung stattfindet, diese sich nur nachweisen liesse, wenn man eine Substanz wählte, an der sich alle jene chemischen und physikalischen Veränderungen, die den Reifungsprocess darstellen, noch nicht vollzogen hätten. Aus diesem Grunde stellte ich die Versuche mit gewöhnlichem Quarkkäse (weisser Käse, auch Topfen genannt) an, der eine milchweisse, breiige Masse von angenehm säuerlichem Geruch darstellt. Zweitens aber, und das war das Wichtigere, es musste nach dem Vorgange von Brassier und Kemmerich die absolute Veränderung im Fettgehalt ermittelt werden, da die Ermittlung der relativen die Frage nach einer Neubildung von Fett nicht einwurfsfrei entscheiden konnte. Zu diesem Zweck wurden gleiche Portionen des frischen Käses abgewogen; von diesen einige sogleich, andere, nachdem die Reifung eingetreten war, auf ihren Fettgehalt untersucht. Die so erhaltenen Werthe waren absolute.

I. Versuchsreihe.

21. Dezember 1891.

Je 40 gr frischer Quarkkäse werden in Uhrgläsern abgewogen und mit Bechergläsern zugedeckt.

a) Untersuchung des frischen Käses.

2 Portionen (I, II) werden zur sofortigen Untersuchung im Trockenschrank (Temperatur 60—70° C.), dann im Exsiccator bis zur annähernden Constanz getrocknet. Die pulverisirte Trockensubstanz wurde unter täglichem Umschütteln 14 Tage auf Aether stehen gelassen; der Aether nach Filtration verdunstet. Es ergaben:

I 7,46 gr Trockensubstanz 0,7745 gr Fett (Aetherextract),
also in 100 gr frischer Substanz

(= 20,35 gr Trockensubstanz)

2,11 % Fett.

dingte Zunahme der freien Fettsäuren, während der Gesamtgehalt an Fettstoffen sich nicht wesentlich verändert.

II 7,55 gr Trockensubstanz 0,8533 gr Fett
 also in 100 gr frischer Substanz
 (= 20,925 gr Trockensubstanz)
 2,37 % Fett.

Die übrigen aufbewahrten Portionen überzogen sich bald mit einem weisslichen Pelze von Schimmelvegetationen, die den Käse nach und nach in eine dunkelgelbe Masse von schmieriger Consistenz und intensivem Käsegeruch verwandelten.

b) Untersuchung des gereiften Käses.

2 Portionen (III, IV), die 35 Tage gestanden hatten, wie unter a behandelt.

III 5,62 gr Trockensubstanz ergaben 0,86 gr Fett,
 also 6,72 gr Trockensubstanz
 (= 40 gr frischer Substanz)
 1,0283 gr Fett,
 demnach in 100 gr frischer Substanz
 (= 16,8 gr Trockensubstanz)
 2,5707 % Fett.

IV 4,41 gr Trockensubstanz ergaben 0,6110 gr Fett,
 also 7,06 gr Trockensubstanz.
 (= 40 gr frischer Substanz)
 0,9781 gr Fett,
 demnach in 100 gr frischer Substanz
 (= 17,65 gr Trockensubstanz)
 2,4455 % Fett.

Somit enthielten im Mittel:

100 gr Käse			
frisch	gereift	absolute Vermehrung	Vermehrung in %
2,24 %	2,51 %	0,27 gr	12 %

Aus diesem Versuch musste ich den Schluss ziehen, dass bei der gewöhnlichen Käsereifung jedenfalls die Fettbildung keine hervorragende Rolle spielte, wie Blondeau angenommen. Denn wenn man auch den Einwand erheben konnte, dass die Bedingungen für die Fettbildung ungünstige gewesen wären, so war doch andererseits der Reifungsprocess gut verlaufen und da gleichwohl die Fettvermehrung nur sehr gering war, so kann sie nicht als für diesen Process charakteristisch angesehen werden. Eine andere Frage war jedoch die, ob nicht unter geeigneten Bedingungen die

Fettbildung gesteigert werden könne. Dazu kam noch, dass die schmierige Consistenz des gereiften Käses, die derselbe auch nach dem Trocknen beibehielt, ein feines Zertheilen der Substanz unmöglich gemacht hatte. Deshalb entschloss ich mich, einen zweiten Versuch und zwar unter Vermeidung der Trockensubstanz anzustellen.

II. Versuchsreihe.

27. Januar 1892.

Von frischem Quarkkäse werden Portionen von je 50 gr in Porcellanschalen abgewogen, diese mit Glasplatten bedeckt.

a) Untersuchung des frischen Käses.

2 Portionen (I, II) werden zur Entwässerung mit absolutem Alkohol gerührt, dieser dann decantirt. Nachdem das Verfahren mehrere Tage hindurch fortgesetzt ist, wird der Käse, sowie der Rückstand des auf einem Wasserbade verdunsteten Alkohols 14 Tage auf Aether gesetzt. Der Aetherextract, der in Folge des Alkohol- und Wassergehaltes des Käses verschiedene in Aether nicht lösliche Stoffe enthalten musste, wurde nochmals in Aether gelöst, dieser filtrirt und verdunstet.

I 50 gr Substanz ergaben 1,54 gr Fett,
also 3,08 ‰.

II 50 gr Substanz ergaben 1,526 gr Fett,
also 3,052 ‰.

b) Untersuchung des gereiften Käses.

2 Portionen (III, IV), die 10 Tage gestanden hatten, wie unter a behandelt.

III ergiebt 1,7605 gr Fett,
also 3,521 ‰.

IV ergiebt 1,819 gr Fett,
also 3,638 ‰.

Mithin enthielten an Fett im Mittel:

100 gr Käse

frisch	gereift	absolute Vermehrung	Vermehrung in ‰
3,066 ‰	3,5795 ‰	0,5135 gr	17 ‰

Da auch in diesem Falle die Fettzunahme eine geringe war, so beschloss ich, um dem Einwand zu entgehen, die Analysen des reifen Käses hätten zufällig einen höheren Werth ergeben, in einem dritten Versuch mehrere Controlanalysen zu machen; gleichzeitig suchte ich den möglichen Einwand, der Aether extrahire

den reifen Käse schneller und besser, wodurch höhere Werthe resultirten, dadurch zu entkräften, dass ich der ersten Extraktion noch eine zweite und dritte folgen liess. Diese zeigen die mehrfach schon hervorgehobene Schwierigkeit einer vollständigen Extraktion der ätherlöslichen Substanzen.

III. Versuchsreihe.

10. Mai 1892.

Von frischem Quarkkäse werden Portionen zu je 50 gr in Porzellanschalen abgewogen und mit Glasplatten zugedeckt.

a) Untersuchung des frischen Käses.

4 Portionen (I—IV) werden im Trockenschrank bei allmählich gesteigerter Temperatur (44—80° C.), dann im Exsiccator getrocknet. Die gesammte Trockensubstanz wird pulverisirt und auf Aether gestellt. Die Analyse ergibt:

Nr.	1. Extraction (23 Tage)	2. Extraction (15 Tage)	3. Extraction (13 Tage)
I	0,44895 gr	0,0153 gr	0,0029 gr
II	0,4828 "	0,0117 "	0,0008 "
III	0,5966 "	0,0119 "	0,0030 "
IV	0,5711 "	0,0095 "	0,0030 "

Demnach im Ganzen:

I 0,46715 gr oder 0,9343 % Fett.

II 0,4953 " " 0,9906 " "

III 0,6115 " " 1,2230 " "

IV 0,5839 " " 1,1678 " "

im Mittel 1,0789 % Fett.

Durch direkte Bestimmung aus 200 gr Käse erhalten: 2,15785 gr Fett.

b) Untersuchung des Käses nach 7tägigem Stehen.

4 Portionen (V—VIII) wie unter a) behandelt. Die Analyse ergibt:
(Fett in gr)

Nr.	1. Extraction (23 Tage)	2. Extraction (15 Tage)	3. Extraction (13 Tage)
V	0,6463 gr	0,0083 gr	0,0026 gr
VI	0,7169 "	0,0075 "	0,0004 "
VII	0,7244 "	0,0130 "	0,0020 "
VIII	0,6960 "	0,0122 "	0,0020 "

Demnach im Ganzen:

V 0,6572 gr oder 1,3144 % Fett

VI 0,7248 „ „ 1,4496 „ „

VII 0,7394 „ „ 1,4788 „ „

VIII 0,7102 „ „ 1,4204 „ „

im Mittel 1,41580 % Fett.

Durch direkte Bestimmung aus 200 gr Käse erhalten: 2,8316 gr Fett.

c) Untersuchung des Käses nach 14 tägigem Stehen.

4 Portionen (IX—XII) wie unter a behandelt. Ergebniss der Analyse:
(Fett in gr)

Nr.	1. Extraction (23 Tage)	2. Extraction (15 Tage)	3. Extraction (13 Tage)
IX	0,9320 gr	0,0408 gr	0,0040 gr
X	1,0337 „	0,0445 „	0,0087 „
XI	1,0038 „	0,0413 „	0,0054 „
XII	1,1395 „	0,0460 „	0,0064 „

Somit im Ganzen:

IX 0,9768 gr oder 1,9536 % Fett

X 1,0860 „ „ 2,1720 „ „

XI 1,0505 „ „ 2,1010 „ „

XII 1,1919 „ „ 2,3838 „ „

im Mittel 2,1526 % Fett.

Durch direkte Bestimmung aus 200 gr Käse erhalten: 1,3052 gr Fett.

Wir haben also:

200 gr Käse enthalten an Fett:

frisch	a. 7 Tage gereift	b. 14 Tage gereift	absolute Vermehrung	Vermehrung in %
2,15785 gr	2,8316 gr	4,3052 gr	a) 0,67375 gr b) 2,14735 gr	a) 31 % b) 100 %

Der Uebersichtlichkeit wegen stelle ich die in den drei Versuchsreihen beobachtete Fettvermehrung (bezogen auf 100 gr frische Substanz) in der folgenden Tabelle zusammen:

I. Versuch	II. Versuch	III. Versuch
0,27 gr	0,5135 gr	a) 0,3369 gr b) 1,0737 „
(Mittel aus 2 Analysen)	(Mittel aus 2 Analysen)	(Mittel aus 4 Analysen).

Waren die so gefundenen Werthe auch nicht gross, so schien mir doch besonders der letzte Versuch bei der grossen Zahl der Controlanalysen zu beweisen, dass unter geeigneten Bedingungen der Aetherextrakt bei der Reifung des Käses zunehmen könne. Wodurch ist nun aber diese Vermehrung bedingt? Sind es wirklich neugebildete Fette oder sind es nicht vielmehr andere durch die Zersetzung des Eiweisses bedingte ätherlösliche Substanzen? Obwohl ich mir bewusst war, dass bei der Unzulänglichkeit der Fettbestimmungsmethoden eine genaue Beantwortung der Frage hier, wo es sich um geringe Mengen Substanz handelte, nicht möglich sei, so unternahm ich doch einige Analysen, um die Natur des Aetherextractes etwas klar zu stellen. Von den Stoffen, die hier in Lösung gegangen sein konnten, kamen besonders in Betracht: stickstoffhaltige Fäulnissprodukte des Eiweiss, Milchsäure, Cholestearin, auf welche Substanzen ich daher den in der Versuchsreihe III erhaltenen Aetherextrakt prüfte. Zugleich untersuchte ich den durch Aether entfetteten Käse auf etwa vorhandene Seifen.

I.

Bestimmung der Seifen und Lactate.

a) im frischen Käse.

Eine mit Aether bereits erschöpfte 50 gr Portion wurde mit 50 ccm verdünnter Schwefelsäure in der Wärme behandelt, nach dem Erkalten mit Aether ausgeschüttelt; die Flüssigkeiten im Scheidetrichter getrennt und der Aether verdunstet. Es wurde erhalten:

0,0093 gr Aetherextract,

auf 100 gr berechnet 0,0186 gr Aetherextract.

b) im (14 Tage) gereiften Käse.

Eine Portion wie unter a behandelt, ergibt:

0,0359 gr Aetherextract,

auf 100 gr berechnet 0,0708 gr Aetherextract.

Da diese Zunahme des Aetherextractes im reifen Käse das Resultat nicht wesentlich beeinflusst, so wurde sie nicht in Betracht gezogen.

II.

Stickstoffbestimmung im Aetherextract der Versuchsreihe III¹⁾.

a) im Aetherextract des frischen Käses.

1. 0,3983 gr Aetherextract werden mit 25 ccm concentrirter Schwefel-

1) Methode siehe P. Argutinsky: Ueber die Kjeldahl-Wilfahrt'sche Methode der Stickstoffbestimmung etc. Pflüger's Archiv Bd. 46.

säure und 0,1 ccm Quecksilber bis zur vollständigen Entfärbung gekocht. Nach Zusatz von Natronlauge und Schwefelnatrium wird überdestillirt.

Vorlage 12 ccm Schwefelsäure (1 ccm = 0,002 gr N), zur Neutralisation
gebraucht 11,5 „ Kalilauge (1 ccm = 1 ccm der Schwefelsäure),

verbraucht 0,5 ccm Schwefelsäure = 0,001 gr N.

Also sind in 1,0789 gr Aetherextract enthalten:

0,0027 gr Stickstoff.

2. 0,4176 gr Aetherextract wie unter 1 behandelt.

Vorlage 10 ccm Schwefelsäure;

gebraucht 9,6 „ Kalilauge,

verbraucht 0,4 ccm Schwefelsäure = 0,0008 gr N.

Also sind in 1,0789 gr Aetherextract enthalten:

0,0021 gr Stickstoff.

Mittel von 1 und 2: 0,0024 gr Stickstoff.

b) im Aetherextract des (14 Tage) gereiften Käses.

1. 0,4691 gr Aetherextract zur Analyse verwendet.

Vorlage 16 ccm Schwefelsäure;

gebraucht 14,5 „ Kalilauge,

verbraucht 1,5 ccm Schwefelsäure = 0,003 gr N.

Also in 2,1526 gr Aetherextract sind enthalten:

0,0138 gr Stickstoff.

2. 0,3103 gr Aetherextract zur Analyse verwendet.

Vorlage 10 ccm Schwefelsäure;

gebraucht 9 „ Kalilauge,

verbraucht 1,0 ccm Schwefelsäure (= 0,002 gr N.)

Also sind in 2,1526 gr Aetherextract enthalten:

0,0139 gr Stickstoff.

Mittel von 1 und 2 0,01385 gr Stickstoff.

Wir haben demnach im Mittel im Aetherextract von 100 gr Käse:

frisch: 0,0024 gr N.

nach Reifung: 0,01385 „ „

Also absolute N-Vermehrung 0,01145 gr = 477 %

relative (auf gleiche Mengen Aetherextract bezogen) N-Vermehrung 0,00455 gr = 190 %.

Diese Stickstoffvermehrung ist allerdings recht bedeutend, sie reicht aber dennoch, wie sich rechnerisch zeigen lässt, nicht aus, um eine Zunahme des Aetherextractes von 1 gr zu erklären.

Die Ptomaine sind erst z. T. ihrer Constitution nach bekannt. Legt man der Rechnung eines der stickstoffärmsten, das Mydatoxin $C_6H_{13}NO_2$ zu Grunde, so ist man wohl ziemlich sicher einen zu hohen Wert für die stick-

stoffhaltigen Körper zu bekommen, da die meisten bekannten Ptomaine stickstoffreicher sind.

Es entspricht 1 gr N 8,2 gr Mydatoxin.

Also 0,01145 gr N (absolute N-Vermehrung) 0,0939 gr Mydatoxin.

Es könnte die Vermehrung auch durch Lecithin, das in Aether löslich ist, hervorgerufen sein. Da dieser Körper aber als stickstoffhaltiges Fett, eine Verbindung der von Fettsäureradikalen substituirten Glycerinphosphorsäure mit einer Base Cholin, anzusehen ist, so ist hier nur der stickstoffhaltige Theil (glycerinphosphorsaures Cholin) als Nichtfett in Abzug zu bringen.

Es entspricht 1 gr N 15,1 gr glycerinphosphorsaures Cholin.

Also 0,01145 gr N (= absolute N-Vermehrung) 0,1729 gr glycerinphosphorsaures Cholin.

III.

Bestimmung der unverseifbaren Substanz (Cholestearin).

0,2572 gr Aetherextract des reifen Käses werden mit 25 ccm alkoholischer Natronlauge versetzt, eingedampft: der Rückstand mit heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Aether ausgeschüttelt. Es ergab sich:

0,003 gr Aetherextract;
auf 2,1526 „ Aetherextract berechnet,
0,0256 „ unverseifbare Substanz.

IV.

Bestimmung der Milchsäure.

a) im Aetherextract des frischen Käses.

0,2004 gr Aetherextract werden mit destillirtem Wasser geschüttelt; nach einigen Stunden wird filtrirt, dem Filtrat etwas Bleiessig zugesetzt¹⁾ und von neuem filtrirt. Durch das Filtrat Schwefelwasserstoff geleitet, nach Filtration verdampft, der Rückstand in Aether gelöst, dieser verdunstet.

Rückstand nach Verdunsten des Aethers 0,0014 gr.

Auf 1,0789 gr Aetherextract berechnet, ergiebt sich 0,0075 gr Milchsäure.

b) im Aetherextract des reifen Käses.

0,4142 gr Aetherextract geben wie unter a behandelt 0,0013 gr Milchsäure, also 2,1526 gr Aetherextract,
0,0069 gr Milchsäure.

V.

Bestimmung von Neutralfett und Fettsäuren im Aetherextract.

a) im Aetherextract des frischen Käses.

0,6323 gr Aetherextract werden mit 100 ccm einer 4%₀-Sodalösung $\frac{3}{4}$ Stunden in einem Kolben gekocht. Nach dem Erkalten wird das Neutralfett

1) Eine merkbare Fällung trat nicht ein.

mit Aether ausgeschüttelt, die Flüssigkeiten im Scheidetrichter getrennt und der Aether verdunstet. Es ergibt sich:

0,4987 gr Neutralfett
auf 1,0789 „ Aetherextract berechnet,
0,8509 „ Neutralfett
0,2280 gr Fettsäuren (Differenz).

Zur direkten Bestimmung der Fettsäuren wurde die die Fettsäuren als Natrouseifen enthaltende Sodalösung bis zur stark sauren Reaktion mit Schwefelsäure versetzt und gekocht; die sich abscheidenden Fettsäuren werden mit Aether ausgeschüttelt. Es wurde erhalten:

0,1164 gr Fettsäuren
auf 1,0789 „ Aetherextract berechnet,
0,1986 „ Fettsäuren.

b) im Aetherextract des reifen Käses.

1. 1,0595 gr Aetherextract geben wie unter a behandelt:

0,4547 gr Neutralfett
auf 2,1526 „ Aetherextract berechnet,
0,9238 „ Neutralfett
1,2288 „ Fettsäuren (Differenz).

2. 0,8068 gr Aetherextract geben:

0,3477 gr Neutralfett
auf 2,1526 „ Aetherextract berechnet,
0,93527 „ Neutralfett
1,21733 „ Fettsäuren (Differenz).

Durch Ausschütteln direkt gefunden 0,3819 gr Fettsäuren.

Auf die Gesamtmenge des Aetherextractes berechnet: 1,0273 gr Fettsäuren.

VI.

Schmelzpunktbestimmung der Fettsäuren.

Der Schmelzpunkt wurde in der Weise bestimmt, dass das Thermometer in die geschmolzenen Fettsäuren getaucht wurde, sodass nach dem Erstarren derselben die Quecksilberkuppe mit einer Fettsäureschicht überzogen war. Das Thermometer wurde dann vorsichtig über dem Wasserbade erwärmt und die Temperatur beobachtet, bei der sich unten an der Spitze derselben ein flüssiger Tropfen zeigte. Die Bestimmung ergab:

Schmelzpunkt der Fettsäuren des frischen Käses 35,0 ° C.

„ „ „ „ gereiften Käses 35,9 ° C.

Fassen wir das Ergebniss aus den vorher mitgetheilten Versuchsprotokollen zusammen, so ist das Resultat folgendes: Es findet bei der Reifung des Käses eine Vermehrung des Aetherextractes statt. Diese ist nicht dadurch bedingt, dass stickstoff-

haltige Zersetzungsprodukte des Eiweiss in den Aether übergangen; denn wiewohl die Stickstoffanalyse einen viel höheren Werth für den Aetherextrakt des reifen Käses giebt, so reicht dieser doch nur aus, um einen kleinen Theil der Zunahme zu erklären. Sie ist auch nicht hervorgerufen durch Entstehung von unverseifbarer Substanz (Cholestearin) oder Milchsäure, von welchen Stoffen nur Spuren gefunden wurden. Es handelt sich demnach um die Vermehrung der Fette und zwar sind hauptsächlich die fetten Säuren vermehrt, wie folgendes zeigt:

100 gr Käse enthalten		
	frisch	nach Reifung
Neutralfett	0,8509 gr	0,9295 gr
fette Säuren	0,2280 „	1,2231 „

Die Vermehrung kann entweder dadurch zu Stande kommen, dass die fetten Säuren als solche neu gebildet wurden, oder aber dadurch, dass das Fett als Neutralfett entstand und erst nachträglich verseift wurde. Wie hoch die neugebildeten Säuren constituirt waren, liess sich bei der geringen Menge Substanz nicht bestimmen. Der niedrige Schmelzpunkt, der im verseiften Fett sowohl des frischen (35,0 °) als des gereiften (35,9 °) Käses gefunden wurde, deutet auf einen grossen Gehalt von Oelsäure oder niederen fetten Säuren. Immerhin scheint mir der Umstand, dass der Schmelzpunkt nicht erniedrigt, sondern sogar fast um 1° erhöht erscheint, dafür zu sprechen, dass es sich um neugebildete Säuren von höherem Kohlenstoffgehalt handelt. Den ganzen Process stelle ich mir folgendermassen vor.

Dass Pilzvegetationen die Ursache der Käsereifung sind, ist wohl allgemeine Ansicht, sie überziehen schon nach wenigen Tagen den Käse mit einem dichten weisslichen Pelz. Wie nun Nägeli und Löw¹⁾ nachgewiesen haben, besitzen niedere Pilze im hohen Grade die Fähigkeit, aus allen möglichen Stoffen (Salze, Asparagin, Leucin, aber auch Pepton, Zucker) Fett zu bilden.

1) Nägeli, C. v. und Löw, O.: Ueber die Fettbildung bei niederen Pilzen. Journ. f. prakt. Chem. N. F. XXI. S. 97, 1880.

v. Nägeli, Sitzungsber. d. math.-phys. Klasse d. K. b. Akademie d. Wissenschaften.

Ueber die näheren Vorgänge bei dieser Fettbildung sind wir zur Zeit noch nicht im Klaren. Da jedoch durch die Pilzzelle in den Fällen, wo die Nährlösung nur Salze enthielt, unzweifelhaft das Fett synthetisch dargestellt wurde, so nehme ich an, dass die Pilzzellen aus dem vorhandenen Nährmaterial, das ihnen der Käse bietet, vor allem also das Casein, die Bestandtheile ihres Zelleibes herstellen und zwar das Fett auf synthetischem Wege. Auf synthetischem Wege, da bis jetzt eine chemische Abspaltung hoher Fettsäuren aus Eiweiss nicht nachgewiesen werden konnte, und nur fette Säuren bis zu 6 Kohlenstoffatomen (Capronsäure im Leucin) im Eiweiss gefunden wurden. Dass sich bei dem Ausschalten der Pilzwirkung eine Abnahme der Fette ergibt, hat K e m m e r i c h ¹⁾ durch einen Versuch bewiesen. Gegen ein analytisches Abspalten der höheren Fettsäuren aus dem Eiweiss scheint mir übrigens auch der Umstand zu sprechen, dass die bisher beobachtete Zunahme derselben (K e m m e r i c h, Verf.) gering ist. Das von den Pilzzellen gebildete Neutralfett wird nach dem Absterben derselben gleich dem im Käse frei befindlichen allmählich verseift.

Wie erklären sich nun die so verschiedenen Resultate früherer Forscher?

Blondeau's Zahlen, die eine so grosse Fettvermehrung (1—32 %) zeigen, wie sie nicht wieder beobachtet wurde, sind relative Werthe. Wäre es möglich, hieraus die absoluten Werthe zu ermitteln, so würde die Vermehrung sich der auch sonst beobachteten nähern infolge von 2 Faktoren, die schon von Sieber und Duclaux betont wurden:

1. der Wasserverlust;
2. die durch die Verbrennung des Eiweisses bedingte Verminderung der Trockensubstanz.

Was den 1. Faktor betrifft, so führe ich einige Zahlen dafür an:

1. 300 gr frischer Käse verloren in 2 Monaten 68 gr an Gewicht (Brassier);
2. 81,67 gr Käse verloren in 13 Tagen 20,87 gr an Gewicht (Verf.).

In Betreff des 2. Faktors führe ich folgende Beobachtung an:

1) Pflüger's Archiv Bd. II.

100 gr Käse enthalten

frisch	nach Reifung (35 Tage)
20,53 % Trockensubstanz (Mittel aus 2 Analysen)	17,22 % Trockensubstanz (Mittel aus 2 Analysen)

Durch diese beiden Faktoren kann der relative Fettgehalt sich beliebig steigern, ohne dass eine absolute Fettvermehrung vorliegt. Es erübrigt noch, auf die Erklärung der geringen Veränderung und der Abnahme der Fette, die andere Forscher beobachteten, einzugehen. In Betreff dieser Frage muss ich mich der schon von Kemmerich geäußerten Ansicht anschliessen. Die absolute Veränderung der Fettmenge wird durch 2 Umstände hervorgerufen, die einander entgegen arbeiten:

1. durch die synthetische, fettbildende Thätigkeit der Pilze;
2. durch die analytischen, fettzerstörenden Oxydationsprocesse, welche Fermente vermitteln.

Je nachdem die eine oder die andere Kraft überwiegt, findet eine Zunahme oder Abnahme, oder bei gleicher Stärke keine Veränderung statt.

Durch welche Umstände die fettbildende Thätigkeit der Pilze gesteigert wird, dies zu beantworten, fehlt es noch an experimentellen Grundlagen. Vielleicht, dass eine fettreiche Substanz nicht geeignet hierfür ist.

Meine Ansicht über den Vorgang fasse ich in den Sätzen zusammen:

1. Bei der Reifung des Käses findet unter hierfür geeigneten Umständen eine Vermehrung des Aetherextraktes statt, die durch Vermehrung der fetten Säuren hauptsächlich bedingt ist.

2. Die Fettbildung stellt keinen für die Reifung charakteristischen Vorgang dar, sondern ist eine Begleiterscheinung, die in höherem oder geringerem Maasse den Umständen nach auftritt, bedingt durch die Lebensthätigkeit von Pilzzellen.

3. Die Pilze bilden auf synthetischem Wege aus dem Nährmaterial, das ihnen der Käse bietet, Neutralfett, das später der Verseifung anheimfällt.

Da es sich bei diesem Vorgang um die Arbeit von Pilzen

handelt, denen synthetische Fähigkeiten in ungleich höherem Maasse als der thierischen Zelle zukommen, so liegt auch keine Berechtigung vor, wie es vielfach geschehen ist, denselben als Grund für die Annahme einer Entstehung von Fett aus Eiweiss im thierischen Körper anzuführen.

In engem Zusammenhang mit der in dieser Arbeit behandelten Frage steht die nach der Fettwachsbildung. Es standen sich auch hier zwei Ansichten gegenüber; die einen nehmen die Entstehung des Adipocire aus dem präformirten Fett an, die andern die aus dem Eiweiss der Gewebe. Dass das Fett jedenfalls hierbei betheiligt ist, diese Ansicht hat neuerdings durch die Beobachtung Salkowski's¹⁾ eine sichere Grundlage erfahren, der aus Butter einen dem Fettwachs gleichen Körper erhielt. Durch neuere Versuche ist es jedoch wahrscheinlich geworden, dass auch das Eiweiss der Gewebe sich bei der Fettbildung betheiligt, vermuthlich infolge der Wirkung von Mikroorganismen. Hierher gehört die Beobachtung von Lehmann²⁾, der eine absolute Vermehrung der fetten Säuren von über 3 gr erhielt; hierher auch C. Voit's³⁾ Versuche über die Vermehrung der Fette bei der Fleischfäulniss. Von demselben Gesichtspunkte ist auch die von Hoppe⁴⁾ und Kemmerich⁵⁾ beobachtete Zunahme der MilCHFette zu betrachten. Bei allen diesen Versuchen ist die Wirkung von Mikroorganismen nicht ausgeschlossen. Nur E. Voit⁶⁾ behauptet durch Einlegen von Fleisch in Kalkmilch dieselbe ausgeschlossen zu haben, er erhielt eine Zunahme von 0,861 gr hoher Fettsäuren. Dem entgegen stehen die Versuche von Kraus⁷⁾, der bei steril aufbewahrten

1) E. Salkowski, Zur Kenntniss der Fettwachsbildung. Sep.-Abdr. aus d. Festschrift zu Virchow's Jubiläum. 1891.

2) K. B. Lehmann, Ein Beitrag zur Frage nach der Entstehung des Leichenwachses. Sitzungsber. d. phys. med. Ges. zu Würzburg. 1888.

3) C. Voit, Ueber d. Fettbildung im Thierkörper. Ztschr. f. Biol. V. 1869.

4) F. Hoppe, Untersuchungen über die Bestandtheile der Milch und ihre nächsten Zersetzungen. Arch. f. path. Anat. u. Phys. XVII. 1859.

5) E. Kemmerich, Beiträge zur physiologischen Chemie der Milch. Pflüger's Archiv Bd. II.

6) E. Voit, Versuche über Adipocire-Bildung. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München 1888, IV. S. 50—55.

Ders., Münchener mediz. Wochenschrift, 1888. S. 518.

7) Fr. Kraus, Ueber die in abgestorbenen Geweben spontan eintretenden Veränderungen. Arch. f. exp. Path. und Pharm. XXII. p. 174—200.

Organen keine Fettvermehrung fand; allerdings wurde die Beweiskraft der letzteren angezweifelt, da die Versuchsdauer eine zu kurze war. Jedenfalls bedarf es hier noch weiterer Bestätigung.

Am Schlusse der Arbeit spreche ich Herrn Geheimrath Pflüger, dem ich die Anregung zu der Untersuchung verdanke, für die freundliche Unterstützung, die derselbe mir zu Theil werden liess, meinen herzlichen Dank aus. Gleichzeitig sage ich den Assistenten Herrn Dr. M. Bleibtreu, Dr. Pott und Dr. Schöndorff herzlichen Dank für ihr freundliches Entgegenkommen.

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, Heinrich Jacobsthal, kath. Confession, als Sohn des Geh. Regierungsrath Professor Jacobsthal und seiner Ehefrau Luise geb. Hottenrott am 11. August 1870 in Berlin. Nachdem ich das Kaiserin-Augusta-Gymnasium zu Charlottenburg mit dem Zeugniß der Reife verlassen hatte, suchte ich S.-S. 1890 die Universität Freiburg auf, um mich dem Studium der Medicin zu widmen. Das W.-S. 1890/91 verbrachte ich in Berlin, im S.-S. 1891 bezog ich die Universität Bonn, wo ich am 23. Februar 1892 die ärztliche Vorprüfung bestand. Durch die Güte des Herrn Geheimrath Professor Dr. Pflüger bekleidete ich im W.-S. 1891/92 und im S.-S. 1892 die Stelle eines Amanuensen im physiologischen Institut. Im W.-S. 1892/93 genügte ich der Militärpflicht als Einjährig-Freiwilliger im Feld-Artillerie-Regiment Nr. 15 in Strassburg i. E. Die beiden folgenden Semester verweilte ich in Berlin, um im S.-S. 1894 wieder nach Bonn zurückzukehren.

Meine Lehrer waren:

in Freiburg:

Hildebrand, Riese, Warburg;

in Berlin:

v. Bardeleben, Burchardt, Gast, Gusserow, Gutmann, Joseph, Klemperer, Krönig, Kundt †, Lassar, Liebreich, Martin, Mendel, Pinner, Senator, Sonnenburg, Virchow, Waldeyer, Winter, Jul. Wolff, Zuelzer †;

in Bonn:

Binz, Doutrelepont, Eigenbrodt, Finkler, Fritsch, Jores, Kekulé, Koester, Kruse, von la Valette St. George, Leo, Ludwig, Nussbaum, Pelman, Pflüger, Sämisch, Schiefferdecker, Schultze, Strasburger, Trendelenburg, Ungar, Witzel.
